

〔学位論文要旨〕 松本歯学 38：172～173，2012

活性型ビタミン D₃はマウス歯根膜線維芽細胞の 骨芽細胞への分化を抑制する

陳 彦呈

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織発生・再生学講座

1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits osteoblastic
differentiation of mouse periodontal fibroblasts

YEN-CHEN CHEN

*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University*

Chen YC, Ninomiya T, Hosoya A, Hiraga T,
Miyazawa H and Nakamura H (2012) Arch Oral Biol **57**: 453–9.

【目的】

歯根膜組織は発生学的に歯小囊に由来し、その細胞は骨芽細胞、セメント芽細胞および線維芽細胞に分化すると考えられているが、その分化調節機構については不明な点が残されている。一方、セメント芽細胞はビタミン D レセプター (VDR) を発現すること、活性型ビタミン D₃ (VD₃) はヒト歯根膜線維芽細胞の RANKL 発現上昇作用を持つことが報告されている。今回、歯根膜線維芽細胞の骨芽細胞への分化に対する VD₃ の作用を明らかにするために、マウス歯根膜線維芽細胞における VDR 局在と VD₃ の役割について、形態学的手法および細胞生物学的手法により検討した。

【方法】

胎生13, 14, 17日, 生後10, 35日齢の ddy マウスを4%パラホルムアルデヒドで固定し、脱灰、脱水、パラフィン包埋後、VDR 局在を免疫組織化学的に検索した。また、35日齢マウス臼歯から酵素処理により歯根膜線維芽細胞を採取し、骨誘導培地にて培養後0, 3, 7, 14, 21日の

VDR 発現を real time-PCR 法により解析した。VD₃ の作用については、歯根膜線維芽細胞を骨誘導培地に VD₃ を添加して培養し、7日後に骨芽細胞マーカーであるアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色、21日後に石灰化の指標であるアリザリンレッド染色を行い、評価した。さらに、培養7日目の歯根膜線維芽細胞より mRNA を抽出し、骨芽細胞分化マーカーおよび石灰化抑制因子マーカーの遺伝子発現を real time-PCR 法により解析した。

【結果】

蕾状期、帽状期および鐘状期の歯小囊には VDR 局在はみられなかったが、歯根形成期および歯根完成期の歯根膜の骨芽細胞、セメント芽細胞、線維芽細胞の核に VDR 局在が認められた。歯根膜線維芽細胞における VDR 発現は骨芽細胞への分化に伴い低下した。また、歯根膜線維芽細胞に VD₃ を添加して培養すると、濃度依存的に ALP 活性および石灰化が抑制された。さらに、real-time PCR 法による遺伝子発現解析により、骨芽細胞マーカーである ALP, Osterix, Runx

2 発現は VD_3 添加により低下した。石灰化抑制因子のうち **Msx-2** 発現に変化はみられず、**MGP** 発現は減少傾向を示した。一方、**BMP** に結合能をもつ **periodontal ligament-associated protein-1 (PLAP-1)** は VD_3 濃度に依存して上昇した。

【考察】

歯根膜の骨芽細胞、セメント芽細胞および線維

芽細胞は **VDR** を発現していることが明らかとなった。また、 VD_3 は歯根膜線維芽細胞の **PLAP-1** 発現を上昇させ、**BMP** 作用を抑制することによって骨芽細胞への分化および石灰化を抑制する可能性が示唆された。